

**"Vergleichende biochemische und immunologische
Studien an den Homogenaten der normalen sowie
pathologisch veränderten Leber"**

von
Sigurd Kreis
aus
Rösnitz/Schlesien

1960



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41548411_0092

Aus der Abteilung für klinische Immunologie
des Universitätskrankenhauses Erlangen-Nürnberg
Vorstand: Professor Dr. F. Scheiffarth

**“Vergleichende biochemische und immunologische
Studien an den Homogenaten der normalen sowie
pathologisch veränderten Leber”**

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde
der Hohen Medizinischen Fakultät
der Friedrich-Alexander-Universität
Erlangen-Nürnberg

vorgelegt
von
Sigurd Kreis
aus
Rösnitz/Schlesien

Gedruckt mit Erlaubnis der Medizinischen
Fakultät der Universität Erlangen-Nürnberg



Referent : Prof. Dr. med. F. Scheiffarth

Dekan : Prof. Dr. med. E. Wetterer

Tag der mündlichen Prüfung : 8.4.1968

Herrn Professor Dr. F. Scheiffarth möchte ich für die freundliche Übernahme des Referats und die Überlassung des Themas herzlich danken.

Ein besonderes Anliegen ist es mir, Frl. PD Dr. H. Götz, die mir immer mit Rat und Tat hilfreich zur Seite stand, meinen Dank auszusprechen.

I n h a l t s v e r z e i c h n i s

Seite

Einleitung	1-2
Versuchsanordnung und Methodik ...	2-5
Ergebnisse	5-15
Diskussion	16-18
Zusammenfassung	19-20
Literaturverzeichnis	21-30

E i n l e i t u n g :

Die Studien zur Aufklärung von Organhomogenaten mit dem Ziel einer näheren Charakterisierung der löslichen Proteine und Fermente von Zellproteinen haben durch die seit mehr als zehn Jahren erschlossene Methodik der Kombination von Elektrophorese im Agar-gel und verschiedener Färbe- bzw. Fermentnachweisreaktionen eine bemerkenswerte Bereicherung erfahren. Es liegt nahe, solche Analysen vor allem in den Dienst einer vergleichenden Pathologie zu stellen und selbstverständlich nicht nur für die Grundlagenforschung, sondern vor allem für die klinische Diagnostik auszuwerten. Dies umso mehr, als Beziehungen zwischen Organproteinen und Organfermenten zu Serumproteinen und Serumfermenten unter pathologischen Bedingungen bereits eine feste Erfahrungstatsache geworden sind. Man denke an den akuten Gewebszerfall und die LDH-Anreicherung im Serum sowie an die verschiedenen Dysproteinämien, die ebenfalls als Indikatoren bei Organprozessen gewertet werden können.

Unter den Organhomogenaten sind verständlicherweise die Leberproteine am besten studiert. So finden sich zum Beispiel bereits mit der einfachen Elektrophorese vorgenommene Untersuchungen zur Analyse der Lebereiweißextrakte von Mensch und Tier unter normalen und pathologischen Bedingungen (4,8,9,23,27,28,42,49). Im eigenen Arbeitskreis wurde in früheren Arbeiten über die Proteinkonstellation der normalen Leber (12,37,38) und über vergleichende agarerelektrophoretische Studien an Extrakten der normalen und pathologischen Leber (15) berichtet. Beim Studium der einschlägigen Literatur findet sich noch eine Reihe älterer und jüngerer Beiträge, die auf diesem Gebiet zu wertvollen Erkenntnissen geführt haben (1,2,3,6,7,10,11,17,24,25,26,32,45,50,51,56,57). Die

einzelnen Mitteilungen stellen jedoch, wenn man von wenigen Ausnahmen absieht (29a - d), jeweils nur Einzelbeiträge zur Charakterisierung der Proteine der normalen und pathologisch veränderten Leber dar, so daß es uns gerechtfertigt erschien, systematische Untersuchungen zur Charakterisierung von Organproteinen vorzunehmen.

Material, Versuchsanordnung und Methodik

1) Material und Versuchsanordnung:

Es wurden die Extrakte von 34 verschiedenen menschlichen Leberorganen ⁺⁾ aufbereitet und untersucht. Unter ihnen befanden sich 5 normale Lebern, 4 Lebern mit chron. Parenchymschaden und 3 Lebern mit ausgeprägter Zirrhose.

Die Leberextrakte wurden vergleichsweise mit einem normalen Humanserum agarelektrophoretisch getrennt, anschließend färbend, insbesondere mit Fermentnachweisen dargestellt und immunoelektrophoretisch gegen spezifische Anti-Leberseren und ein Anti-Humanserum ⁺⁺⁾ differenziert.

2) Methodik:

a) Aufbereitung der Organe (13):

Das frische Sektionspräparat wurde grob von Bindegewebe befreit, in dünne Scheiben geschnitten und mindestens 3 Stunden lang unter fließendem Wasser gespült. Nach feiner Zerkleinerung und

⁺⁾ Die Sektionspräparate wurden uns freundlicherweise vom Pathologischen Institut der Universität Erlangen-Nürnberg (Direktor: Prof. Dr. E. Müller) zur Verfügung gestellt. Die histologischen Diagnosen verdanken wir Herrn Dr. med. Breining.

⁺⁺⁾ Antihumanserum der Firma Hyland, Los Angeles, U.S.A.

Entfernung des restlichen Bindegewebes wurde das Organsubstrat mehrmals in aqua dest. gewaschen, im Verhältnis 1 : 4 mit aqua dest. versetzt und im Ultra-Turrax ⁺⁾ homogenisiert. Das so gewonnene Homogenat wurde schließlich bei 12 000 U/min. in der Kühlzentrifuge ⁺⁺⁾ 30 Minuten lang zentrifugiert, der Überstand in der Tiefkühltruhe gesammelt, aufgetaut und nach folgenden Gruppen gepoolt: normale Leber, Leber mit akuter Blutstauung, Leber mit subchronischer Blutstauung, Stauungsleber, Leberzirrhose, Leber-Ca auf dem Boden einer weit fortgeschrittenen Zirrhose und Cholangitis.

Jeder einzelne Mischextrakt wurde durch Dialyse ⁺⁺⁺⁾ gegen 20 %iges Kollidon bei 4°C auf einen Eiweißgehalt von 2 - 3 % eingeengt.

b) Gewinnung von Anti-Leberseren:

Von je einem Extraktpool aus normaler Leber, Stauungsleber und Leberzirrhose wurden im Tierversuch, und zwar an Kaninchen, durch Sensibilisierung, spezifische Anti-Leberseren induziert. Die Antigeninjektionen sind dem Sensibilisierungsschema zu entnehmen (Tab. 1).

Die Bildung von präzipitierenden Antikörpern wurde mit Hilfe der zweidimensionalen Immunodiffusion nach OUCHTERLONY (s.u.) kontrolliert. Zum Zeitpunkt der optimalen Präzipitinbildung gegen die

⁺⁾ Jahnke und Kunkel AG, Staufen i.Br.

⁺⁺⁾ Fa. Christ, Frankfurt/M.

⁺⁺⁺⁾ Membranfilter-Gesellschaft, Göttingen

Sensibilisierungsschema

Zeit	Kaninchen NL ^{+))}	Kaninchen STL ^{+))}	Kaninchen Z ^{+))}
21.10.	Ausgangswert	Ausgangswert	Ausgangswert
29.10.	0,5ml Extrakt i.v. 4,0ml Emulsion i.m. ⁺⁺⁾	0,5ml Extrakt i.v. 4,0ml Emulsion i.m.	0,5ml Extrakt i.v. 4,0ml Emulsion i.m.
2.11.	0,5ml Extrakt s.c.	0,5ml Extrakt s.c.	0,5ml Extrakt s.c.
3.11.	0,5ml Extrakt s.c.	0,5ml Extrakt s.c.	0,5ml Extrakt s.c.
4.11.	0,5ml Extrakt s.c.	0,5ml Extrakt s.c.	0,5ml Extrakt s.c.
5.11.	0,5ml Extrakt s.c.	0,5ml Extrakt s.c.	0,5ml Extrakt s.c.
6.11.	0,5ml Extrakt s.c.	0,5ml Extrakt s.c.	0,5ml Extrakt s.c.
8.11.	Kontrolle 1a ^{+))} +	Kontrolle 1 ∅	Kontrolle 1 ∅
14.11.		0,5ml Extrakt s.c.	0,5ml Extrakt s.c.
15.11.		0,5ml Extrakt s.c.	0,5ml Extrakt s.c.
16.11.	Kontrolle 1b + 0,5ml Extrakt s.c.	0,5ml Extrakt s.c.	0,5ml Extrakt s.c.
19.11.	Kontrolle 2 ^{+))} +	Kontrolle 2 ∅	Kontrolle 2 ∅
3.12.	4 ml Emulsion i.m. ⁺⁺⁾	4 ml Emulsion i.m.	4 ml Emulsion i.m.
12.12.	Kontrolle 3 ^{+))} +	Kontrolle 3 +	Kontrolle 3 +

- ^{+))} Kaninchen NL : sensibilisiert mit dem Extrakt histologisch un-
veränderter Leberorgane
Kaninchen STL : sensibilisiert mit dem Extrakt aus Stauungslebern
Kaninchen Z : sensibilisiert mit dem Extrakt zirrhotisch ver-
änderter Leberorgane

⁺⁺⁾ 1 Teil Extrakt + 3 Teile Freund'sches Adjuvans

^{+))} Kontrollen siehe Abb. 1

Tab 1

einzelnen verwandten Antigenextrakte wurde den Tieren Blut entnommen, das klare Serum abgehebert und für die immunoelektrophoretischen Analysen bereitgestellt.

c) Zweidimensionale Immundiffusion nach OUCHTERLONY:

Verwendet wurden agarbeschichtete Objektträger bzw. Diaglaser, auf denen im Rosettentest die optimalen Präzipitintiter ermittelt wurden (Abb. 1). Die methodischen Einzelheiten entsprechen den Angaben der einschlägigen Literatur (22,33). Als bestes Antiserum erwies sich das Anti-Normalleber-Serum.

d) Einfache Elektrophorese im Agargel mit Färbemethoden:

Die einfache Agarelektrophorese wurde nach der etwas modifizierten von GRABAR und WILLIAMS beschriebenen Technik vorgenommen (14,18,19,20,22,58). Die einzelnen Eiweißfraktionen wurden durch folgende Farbe- bzw. Fermentnachweismethoden charakterisiert: Proteine mit Amidoschwarz 10 B (19,52,53,54), Glykoproteide mit Perjodsäure und Schiffischem Reagenz (19,53), Lipoproteide mit Sudanschwarz B (19), Coeruloplasmin durch die Oxydasereaktion unter Verwendung von p-Phenylendiamin (19,52), peroxydaseaktive Fraktionen mit Benzidin (19,22), esteraseaktive Komponenten mit Indoxylazetat und β -Naphthylazetat (19,34), Lactatdehydrogenase mit Nitro-BT (22,35,55), alkalische Phosphatase mit Phenolphthalein-diphosphat (39), Amylase durch die Jod-Stärke-Reaktion (16,21,36).

Die Dokumentation der Färbungen erfolgte photographisch.

Schema und Abbildungen der zweidimensionalen
Immunodiffusion nach OUCHTERLONY im
Rosettentest

Schema



Leberextrakt innen
Kaninchenserum außen

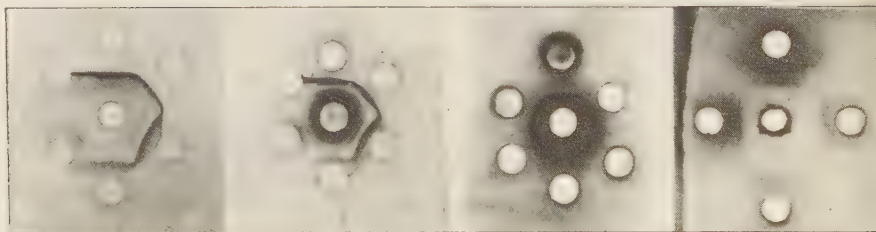
Verdünnungsreihe: 1:0, 1:1, 1:2, 1:4, 1:8, 1:16



Leberextrakt innen
Kaninchenserum außen

Verdünnungsreihe: 1:2, 1:4, 1:16, 1:32

Abbildungen



8. 11. 1966

19. 11. 1966

12. 12. 1966

12. 12. 1966

Kontrollen

e) Immunoelktrophorese:

Die Extrakte der normalen Leber, Stauungsleber und Leberzirrhose wurden unter Verwendung der oben angeführten spezifischen Anti-Leberseren und eines normalen Anti-Humanserums immunoelktrophoretisch analysiert. Es wurde hierbei lediglich die zusätzliche Färbung der Präzipitationslinien mit Amidoschwarz 10 B vorgenommen. Methodische Einzelheiten sind der Originalliteratur (18,19,20,58) und eigenen Angaben (14,22) zu entnehmen.

E r g e b n i s s e

a) Agarelektrophoretische und biochemische Befunde (Abb. 2):

Proteine:

Nach elektrophoretischer Trennung normaler Leberhomogenate und Färbung mit Amidoschwarz 10 B konnten im wesentlichen folgende Fraktionen demonstriert werden:

Verglichen mit den Proteinen eines menschlichen Serums fanden sich 2-3 Präalbumine, 1 Albuminfraktion, 1 schwach gefärbte Komponente mit der Wanderungsgeschwindigkeit der α_1 -Globuline, 1 relativ intensiv gefärbter Komplex im α_2 -Bereich mit 3 deutlich erkennbaren Unterfraktionen, weiterhin 3 Fraktionen, die dem β_1/β_2 -System zugeordnet werden konnten sowie schließlich 1 relativ breiter γ -Globulin-Komplex, der seinerseits in 2 Subfraktionen zu differenzieren war. Somit kamen 12-13 Proteinsysteme zur Darstellung. Während die aufgetrennten Leberextrakte bei akuter Blutstauung der Leber allenfalls eine rela-

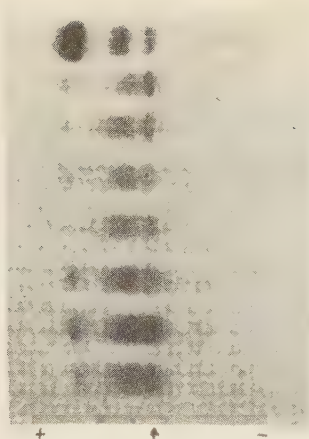


Abb. 2 Proteine

- HS = Humanserum
- Ch = Cholangitis
- Cal = Leberzell-Ga
- LZ = Leberzirrhose
- SL = Stauungsleber
- SL = Subchron. Blutstauung
- AL = Akute Blutstauung
- NL = Normalleber

NL
AL
SL
SL
LZ
Cal
Ch
HS



Abb. 3 Glykoproteide

tive Vermehrung von α_2 -Globulinen erkennen ließen, waren im Proteinsystem der fortgeschrittenen Parenchymschäden einerseits eine allgemeine Hypoproteinämie mit Reduzierung sämtlicher Fraktionen nachweisbar, weiterhin eine relativ stärkere Reduzierung der Albuminkomponente sowie weitgehend der Schwund vor allem des γ -Systems. Noch auffälliger waren die Veränderungen bei einem Leberzell-Ca auf dem Boden einer weit fortgeschrittenen Zirrhose. Die Leber mit Cholangitis ergab keine auffällige Abweichung vom Normalbefund. Atypische Fraktionen bzw. zusätzliche Komponenten konnten in keinem der untersuchten Präparate abweichend vom Proteinhomogenat des Homogenates der normalen Leber nachgewiesen werden.

Glykoproteide (Abb. 3):

Die rein quantitativen Abweichungen unter den Befunden nach Proteinfärbung mit Amidochwarz 10 B fanden sich im wesentlichen auch bei der Darstellung der Glykoproteide mit Perjodsäure und Schiff'schem Reagenz. Allerdings muß festgestellt werden, daß schon im Normalextrakt Intensitätsunterschiede in der Anfärbbarkeit der löslichen Proteine offenkundig wurden, so daß Glykoproteide in relativ anderer Verteilung in den Homogenaten vorlagen als Gesamtproteine. Hier traten vor allem die α_2 -Globuline, aber auch der schnell wandernde α_1 -Bereich in Erscheinung. Darüber hinaus war die Zone der β -Globuline hinsichtlich ihrer Kohlenhydratfärbbarkeit deutlich darzustellen; sie erwies sich als relativ intensiver und homogener als bei Färbung mit Amidochwarz.

Unter den Homogenaten der pathologisch veränderten Leberorgane fiel vor allem bei den Zirrhosen eine Verminderung der Farbtintensität im schnell wand-

dernden α_1 - sowie im β_2/γ -Globulin-Bereich auf.

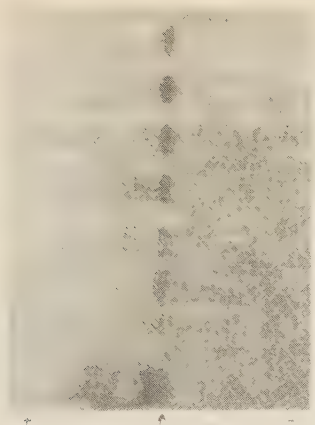
Lipoide (Abb. 4):

Lipoide wurden in den Extrakten der histologisch unveränderten Organe als α_2 -Komplex mit 2-3 Unterkomponenten, als α_1 -Globulin sowie als β_1 -Globuline nahe der Auftragestelle nachgewiesen. Die Färbung war für jede dieser Fraktionen insgesamt schwach.

Quantitative Veränderungen unter den verschiedenen Präparaten zeigten vor allem fortgeschrittene Leberparenchymschäden bzw. zirrhotische Prozesse: Sie bestanden im wesentlichen in einer stärkeren Anfärbbarkeit der α_2 -Lipoide sowie in einer deutlich verminderten Farbreaktion der α_1 -Komponente. Die β_1 -Lipoide verhielten sich reaktiv indifferent.

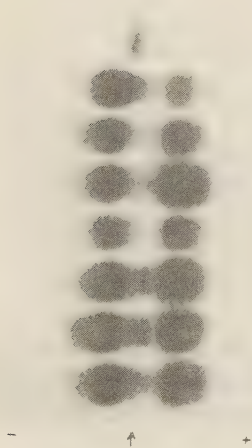
Esterasen (Abb. 5a und 5b):

Bei der Darstellung esteraseaktiver Komponenten mit Indoxylazetat (Abb. 5a) imponierten einerseits die unterschiedliche Verteilung in Normalserum und normalen Leberextrakten, andererseits die Intensität der Farbreaktionen in den Organhomogenaten. Während das Vergleichsserum ausschließlich eine schmale Farbzone unmittelbar anodisch vor der Auftragestelle aufwies, zeigten normale und pathologisch veränderte Lebern ein reichhaltiges Fermentmuster über den gesamten elektrophoretischen Trennbereich. Ein Komplex reichte vom Präalbumin bis in die Gruppe der α_1 -Globuline; er ließ sich in wenigstens 3 Komponenten differenzieren. Der andere erstreckte sich von der Auftragestelle kathodisch bis in die Zone der β/γ -Globuline und ließ sich ebenfalls in Subfraktionen differenzieren. Insgesamt kamen im kathodisch gewanderten Globulin-



HS
CH
CaL
LZ
STL
SL
AL
NL

Abb. 4 Lipoproteide



HS
CH
CaL
LZ
STL
SL
AL
NL

Abb. 5 a Cholinesterasen



Abb. 5 b Aliesterasen

Bereich 4 esteraseaktive Fraktionen zur Darstellung. Schließlich ließ sich eine schwach gefärbte Zone zwischen Auftragestelle und α_1 -Bereich mit wenigstens einer relativ schmalbasigen fermentaktiven Fraktion erkennen.

Unter den pathologischen Extrakten waren im wesentlichen quantitative Veränderungen feststellbar. Insbesondere imponierte die Relationsverschiebung in den Homogenaten der Stauungsleber, des Leber-Ca, aber auch der Cholangitis, bei denen nicht nur eine allgemeine Reduktion der Fermentaktivität jeder einzelnen Komponente, sondern auch eine deutliche Relationsverschiebung zugunsten der kathodisch gewanderten Proteine nachweisbar war, das heißt also mit vorwiegender Verminderung der anodisch gewanderten Esterasen.

Auch mit der Farbreaktion unter Verwendung von β -Naphthylazetat (Abb. 5b) zur Darstellung der Alkyl-esterasen war bei Vergleich von Serum und Organextrakten die deutliche Diskrepanz im Fermentmuster zu erkennen: Hier zeigten sich im Serum zwar mehr Fraktionen als bei der Färbung mit Indoxylazetat, jedoch waren diese ausschließlich im anodisch gewanderten Trennbereich nachweisbar, während die Organhomogenate sämtlich ein weitumfassendes Spektrum aufwiesen.

Im einzelnen ließen sich in Normalextrakten ein stark fermentaktiver Komplex vom Präalbumin bis in den α_1 -Globulin-Bereich mit 3 Unterfraktionen darstellen, ferner eine relativ scharf begrenzte Komponente im α_2 -Bereich, weiterhin eine stark gefärbte Zone von der Auftragestelle bis in das Gebiet der β_2 -Globuline mit 2-3 Subfraktionen sowie schließlich ein relativ schwächerer fermentaktiver, schlierenhafter Bezirk im γ -Bereich mit ebenfalls meist 2 Subfraktionen. Insgesamt war die Fermentaktivität

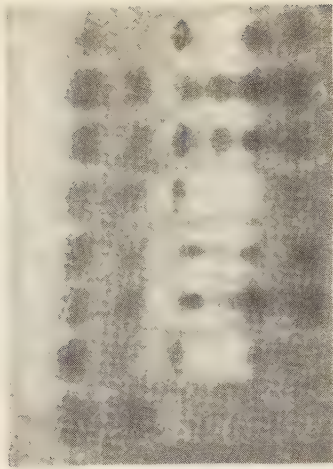
mit β -Naphthylazetat erheblich intensiver darstellbar als mit Indoxylazetat, insbesondere fiel hier eine relativ stärkere Fermentaktivität im Bereich der anodisch gewanderten Proteine auf. Unter den Homogenaten der pathologisch veränderten Leberorgane war im wesentlichen eine relative Verminderung der Fermentaktivität mit Schwund der beschriebenen α_2 -Fraktion wahrnehmbar, bei einer Stauungsleber (mit stärkerem Parenchymschwund) darüber hinaus der deutliche Abfall des anodisch (α_1 -Globulin-Bereich) und kathodisch (β -Globulin-Bereich) gewanderten Fermentkomplexes.

In Diskrepanz zum Befund bei Verwendung von Indoxylazetat waren hier bei Leberzirrhose und insbesondere Leberzell-Ca keine einwandfrei faßbaren Unterschiede im Vergleich zum Normalhomogenat nachweisbar.

Lactatdehydrogenase (Abb. 6a und 6b):

LDH-Aktive Fraktionen fanden sich im normalen Leberextrakt als LDH₁ im Albumin- α_1 -Bereich, als schwache LDH₂ im α_2 -Bereich, als Spur um die Auftragestelle und als Komplex aus 2-3 Komponenten bestehend im β_2/γ -Bereich. Gemessen an ihrer Intensität waren die β/γ -Fraktionen am intensivsten gefärbt.

In den Extrakten der Leber mit Blutstauung fiel eine weitere Differenzierung der Isoenzyme der LDH mit der Darstellung von insgesamt 7 Fraktionen auf, wobei insbesondere der Bereich der Auftragestelle und γ -Globuline mit 5 Komponenten besonders hervortrat. Die Stauungsleber zeigte andererseits eine Verminderung der Fraktionen in diesem Bereich, die zirrhotisch veränderte und die Ca-Leber wiesen eine relative Verschiebung



NL

AL

SL

STL

LZ

Gal

Ch

HS

Abb 6 a Isoenzyme der
Laktatdehydrogenase

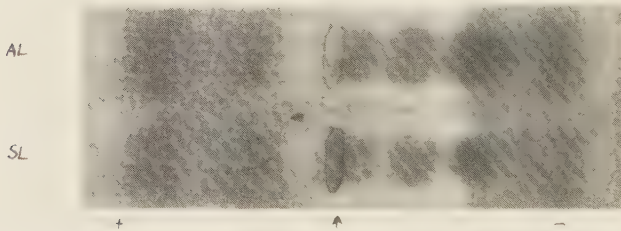


Abb. 6 b Ausschnitt der Isoenzyme
der Laktatdehydrogenase

der Fermentaktivität zugunsten der LDH₄ und der LDH₅ auf. Demgegenüber imponierte die cho=langitische Leber mit einer Relationsverschiebung zugunsten der LDH₁ mit Schwund vor allem der LDH₅, LDH₄ und weitgehend auch der LDH₃. In einer Reihe von Analysensätzen war bei der Farbreaktion ein eigentümliches Phänomen wahrnehm=bar, nämlich eine Aufhellungszone im Plattengrund von der Auftragestelle bis zu den β_2^- bzw. γ_1^- Globulinen.

Peroxydase (Abb. 7a und 7b):

Bei Vergleich der hier analysierten Organhomoge=naten und einem menschlichen Serum ergab sich zu=nächst eine Diskrepanz betreffs des Fermentmusters und der Gesamtaktivität: Während im menschlichen Serum vorwiegend im α_2 -Bereich, geringfügig auch an der Auftragestelle und im Albuminbereich Peroxydaseaktivität nachweisbar waren, konnten in den verschiedenen Leberhomogenaten wenigstens 5-7 Fraktionen exakt differenziert werden. Unter ihnen imponierten eine deutlich gefärbte Albumin=vorfraktion, eine relativ schwächere Fermentak=tivität im α_1 -Bereich, ferner ein wiederum deut=lich gefärbter Komplex (Zone) im α_2 -Bereich so=wie eine intensive Farbzone von der Auftragestelle nunmehr kathodisch im Gebiet der β_1 -Globuline.

Unter den Extrakten pathologisch veränderter Le=bern fiel vor allem eine allgemeine Reduzierung der Fermentaktivität bei zirrhotisch verändertem und karzinomatös durchsetztem Lebergewebe auf; bei letzterem kam es darüber hinaus noch zu einem Schwund der α_2 -Komponente.

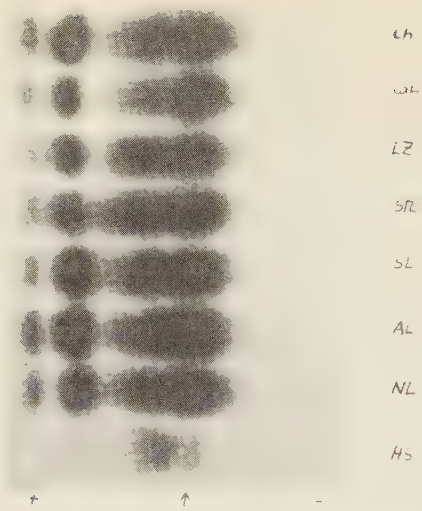


Abb. 7a Peroxydase-
aktive Komponenten

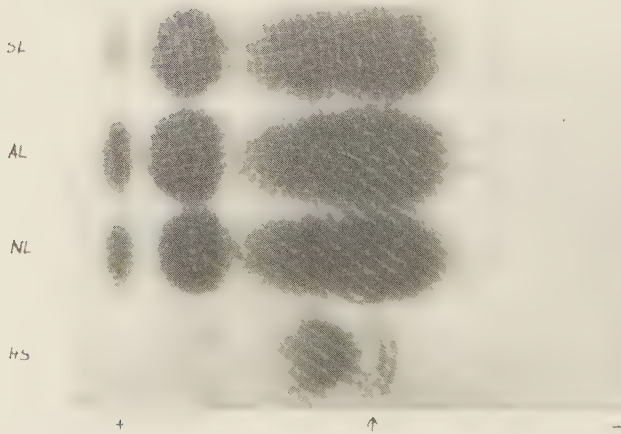


Abb. 7b Ausschnitt peroxydaseaktiver Komponenten

Oxydase (Abb. 8):

Oxydaseaktive Komponenten konnten in nahezu allen Leberextrakten im α_1/α_2 -Bereich in Gestalt von wenigstens 2 Fraktionen nachgewiesen werden. Unter ihnen erwies sich zumeist die relativ schneller wandernde als stärker konzentriert und schärfer begrenzt, während die unmittelbar vor der Auftragestelle gelegene, d.h. im Bereich von α_2 -Globulinen, inhomogen und weniger stark gefärbt erschien. Die Auftragestelle war unterschiedlich stark angefärbt.

Im menschlichen Vergleichsserum konnte demgegenüber nur eine oxydaseaktive Komponente nachgewiesen werden: Sie entspricht einem α_2 -Globulin.

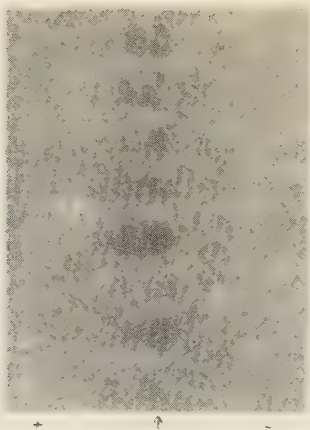
Unter den pathologischen Organextrakten waren im wesentlichen nur quantitative Relationsunterschiede nachweisbar: Bei Leberzirrhose und Cholangitis fielen gleichermaßen eine Verstärkung der Oxydaseaktivität auf, wobei vor allem bei Zirrhosen die Oxydase I besonders kräftig in Erscheinung trat.

Im Gegensatz hierzu konnten im Extrakt der Ga-Leber nur Spuren von Oxydaseaktivität gefunden werden.

Alkalische Phosphatase (Abb. 9):

Die auffallend kräftige Anfärbung der alkalischen Phosphatase erstreckte sich von der Auftragestelle bis in die Zone der α_2 -Globuline, wobei eine Differenzierung dieses Komplexes in zwei unscharf begrenzte Komponenten regelmäßig gelang. Im Vergleichsserum war demgegenüber die Konzentration dieses Fermentes so gering, daß nur ein Spurennachweis gelang.

Die Befunde der verschiedenen pathologischen Extrakten ergaben lediglich Intensitätsschwankungen



NL

AL

SL

STL

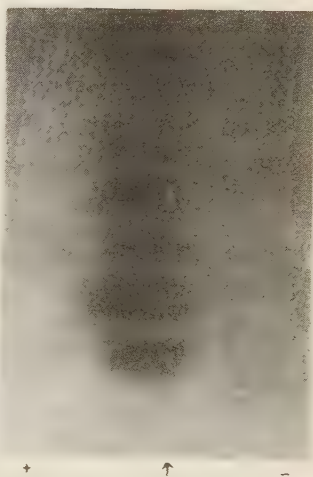
LZ

CaL

Ch

HS

Abb. 8 Oxydase



NL

AL

SL

STL

LZ

CaL

Ch

HS

Abb. 9 Alkalische Phosphatase



Ch

CaL

LZ

STL

SL

AL

NL

HS

Abb. 10 Amylase

und damit allerdings auch Unterschiede in der Ausdehnung des fermentaktiven Bezirkes; die der Auftragestelle näher gelegene Fraktion war dabei zumeist relativ stärker angefärbt als die weiter anodisch gelegene. Die Auftragestelle war stets intensiv mitgefärbt. Desgleichen zeigte sich eine Verschlierung der Farbreaktion in Richtung der Kathode.

Amylase (Abb. 10):

Mit Hilfe der Joa-Stärke-Reaktion konnte im Bereich der β_2/γ -Globuline eine Aufhellungszone nachgewiesen werden, die sich aus 1-2 Komponenten zusammensetzte. Zusätzlich konnten im α_1/α_2 -Bereich rötlich-violette Aufhellungen beobachtet werden.

Tiefgreifendere Unterschiede in den Farbreaktionen zwischen normalen und pathologisch veränderten Leberpräparaten wurden nicht festgestellt.

Immunologische Ergebnisse

Zweidimensionale Immunodiffusion nach OUCHTERLONY:

Diese Methode wurde angewandt zur Feststellung und Aufklärung der entstandenen Präzipitationssysteme gegen die verschiedenen Leberhomogenate. Dabei wurden sowohl die einfache Diffusionstechnik zur Bestimmung der Anzahl der nachweislichen, präzipitierten Antikörper, als auch der Rosettentest zur Bestimmung des Antikörpertiters eingesetzt. Unter Berücksichtigung der unterschiedlichen Organhomogenate ist insgesamt festzustellen, daß diese

bei den einzelnen sensibilisierten Tieren eindeutig unterschiedlichen Effekte mit Bezug auf den Zeitpunkt des ersten Antikörpernachweises sowie mit Bezug auf die Ausbeute (Anzahl und Konzentration) der jeweils spezifischen, präzipitierenden Organ-Antikörper hervorriefen.

Wie aus Tab. 1 und Abb. 2 hervorgeht, konnte mit dem Homogenat der histologisch unveränderten Leberpräparate am frühesten und insgesamt am ergiebigsten der Sensibilisierungseffekt demonstriert werden. Mit dem Homogenat von Stauungslebern sowie mit dem von ausgeprägten Leberzirrhosen waren erstmals bei der dritten Kontrolle, das heißt 52 Tage nach Sensibilisierungsbeginn ein positiver und ausreichender Präzipitatnachweis möglich. Spätere Kontrollen ergaben qualitativ und quantitativ bereits wieder einen Schwund der Antigen-Antikörper-Systeme, die zum Zeitpunkt der dritten Kontrolle objektivierbar waren. Für die Testungen mit Anti-Leberseren wurden bei allen Homogenaten die Seren aus dritter Kontrolle (Anti-Normalleber-Serum) verwendet.

Immunoelektrophoretische Befunde:

Normalleber:

Unter Verwendung des spezifischen Anti-Leberserums konnten in vorliegenden Studien insgesamt 18 Präzipitationssysteme objektiviert werden (Abb. 11 und 12b). Es handelte sich dabei um Systeme vom Präalbumin bis in den Post- γ -Globulin-Bereich. Ohne auf Einzelheiten einzugehen- sie mögen der halb-schematischen Strichzeichnung entnommen werden- fiel im Leberhomogenat die Vielzahl der Subfraktionen des β/γ -Bereiches auf. An Intensität imponierte aber nicht dieser Bereich, sondern eine Al-

bumin-Fraktion, eine mit dem α_1 -Antitrypsin des menschlichen Serums vergleichbare Komponente, ferner α_2 -Globulin vom Typ des menschlichen α_2 -Glykoproteids und außerdem wenigstens zwei Präzipitationslinien im β -Globulin-Bereich. Unter Verwendung eines Anti-Humanserums (Abb. 13b) waren im Leberhomogenat praktisch nur die Komponenten des anodisch gewanderten Bereiches darstellbar, ferner die Fraktion um die Auftragestelle (β_1 -Globulin), nicht aber die kathodisch gewanderten Proteine; hier zeigte sich nur ein schlierenhaftes Präzipitat, weit vom Antiserumkanal entfernt sowie ein schwaches zwischen diesem und dem Antiserumkanal.

Das vergleichsweise mitangesetzte menschliche Serum ergab mit dem spezifischen Anti-Humanserum (Abb. 13a) die bekannten Proteinfractionen, mit dem Anti-Leberserum (Abb. 12a) ebenfalls eine Vielzahl von Komponenten, wobei aber die makromolekularen Proteine des α_2 - und γ -Bereiches vermißt wurden.

Stauungsleber:

Das Stauungsleberhomogenat erbrachte mit einem Anti-Leberserum (Anti-Normalleber-Serum) insgesamt 12 Präzipitationssysteme (Abb. 12c). Sie verteilten sich vom Albumin- bis in den γ -Globulin-Bereich eines vergleichsweise mitgewanderten menschlichen Serums. Unter ihnen imponierten: eine dem Albumin vergleichbare, eine dem α_1 -Antitrypsin nahestehende, zwei im β_1 -Bereich gelegene, eine schneller wandernde γ -Globulin- sowie eine langgezogene, jedoch auffallend schwach ausgebildete γ -Globulin-Fraktion. Mit einem Anti-Humanserum (Abb. 13c) waren auch hier wiederum ausschließlich die anodisch gewanderten Proteine sowie eine unscharf präzipitierende γ_1/β_2 -Komponente darstellbar.

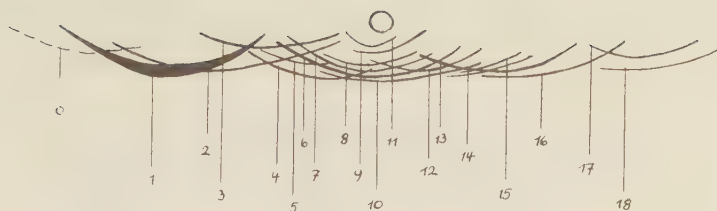
Leberzirrhose:

Bei dem Extrakt des zirrhotischen Leberhomogenats war eine weitere Reduzierung der Präzipitationssysteme nachweisbar: Insgesamt kamen nur 8 Fraktionen zur Darstellung (Abb. 12d). Im Gegensatz zur Normalleber war eine langgezogene Präzipitationslinie im γ -Globulin-Bereich erkennbar. Auch hier war schließlich wieder auffällig, daß mit einem Anti-Humanserum (Abb. 13d) vorwiegend die anodisch gewanderten Fraktionen auspräzipitiert wurden, während der γ/β -Bereich nahezu stumm blieb.

Vergleicht man nun die einzelnen Resultate unter- und miteinander, so läßt sich folgendes feststellen:

Die Normalleber zeigt mit spezifischem Anti-Normalleber-Serum eine Vielzahl von Proteinfractionen, die sich über den gesamten elektrophoretischen Trennbereich erstrecken. Im Vergleich zu den darstellbaren Proteinsystemen eines mitangesetzten, ebenfalls gegen spezifisches Anti-Leberserum getesteten menschlichen Serums unterscheiden sich die Präzipitationslinien des normalen Leberextraktes durch ihre Zahl, ihre unterschiedliche Position und Konzentration, aber auch durch ihre unterschiedlich ausgebildete Länge und Form. Dasselbe gilt im Prinzip von den Präzipitationslinien des Normalleberhomogenates bei Vergleich mit den Präzipitationslinien der Homogenate von Stauungslebern, Leberzirrhosen und Leberzell-Ca, die unter Verwendung eines spezifischen Antileberserums dargestellt werden konnten.

Unter Verwendung eines Anti-Humanserums ergab sich in sämtlichen Leberhomogenaten der auffällige Befund, daß hiermit die kathodisch gewanderten Proteinsysteme praktisch nicht darstellbar waren.



- 0 = Präalbumin
- 1 = Albumin
- 2 = α_1 -Antitrypsin
- 3 = α_2 -Haptocyprein
- 4 = α_2 -Haptogloblin
- 5 = α_2 -Glykoproteid
- 6 =
- 7 = } β_1 -Glykoproteide
- 8 =
- 9 =
- 10 = α_2/β_1 -Hepatoferrin
- 11 = α_2/β_1 -Lipoproteid
- 12 = β_1 -C
- 13 =
- 14 = } β_2 -Globuline
- 15 =
- 16 =
- 17 = } β_2 -Globuline
- 18 = } β_2 -Globuline

Abb. 11 Halbschematische Darstellung der löslichen Proteine von Homogenaten histologisch unveränderter Leberorgane

Immunelektrophoretische Analysen unter Verwendung eines spezifischen Antileberserums vom Kaninchen

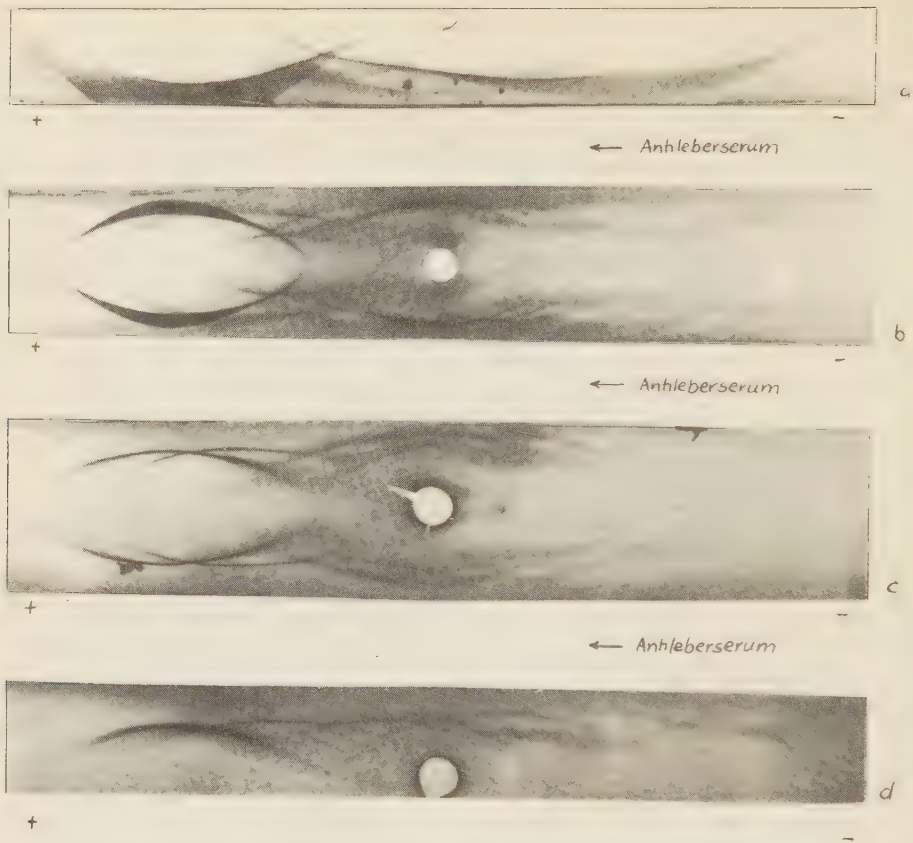
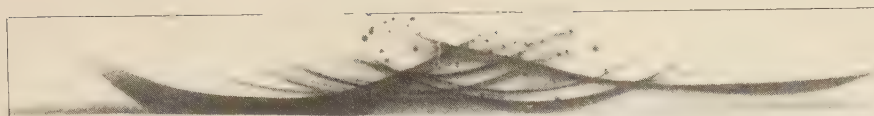
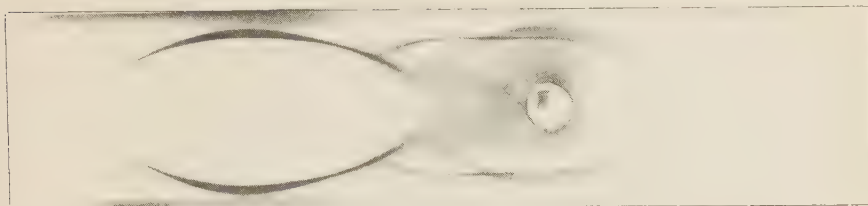


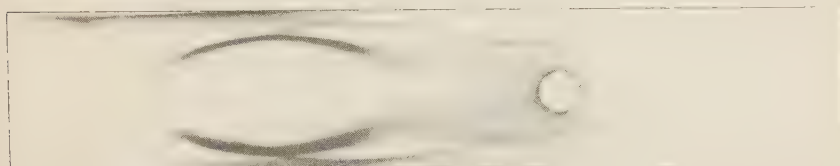
Abb. 12 a Humanserum gegen Anhleberserum (Anti-NL)
 b Normalleber " "
 c Stauungsleber " "
 d Leberzirrhose " "



← Antihumanserum



← Antihumanserum



← Antihumanserum



Abb. 13 a Humanserum gegen Antihumanserum
 b Normalleber " "
 c Stauungsleber " "
 d Leberzirrhose " "

D i s k u s s i o n

Die vorliegenden vergleichenden Analysen von Leberhomogenaten histologisch unveränderter sowie pathologisch umgewandelter Lebergewebe haben gezeigt, daß auf Grund der biochemischen Eigenschaften ihrer löslichen Proteine tiefgreifendere Veränderungen vorwiegend in den Fermentsystemen zutage treten; weniger auffällig sind die Befunde der Gesamtproteinanalysen, der Glykoproteid- und Lipoidbestimmungen.

Unter den mit Amidoschwarz gefärbten Proteinkomponenten beeindrucken lediglich Unterschiede mit Bezug auf die Zahl der Albuminvorfraktionen, die Intensität der Albuminkomponenten sowie die Differenzierbarkeit der β - und γ -Globuline. Gesetzmäßigkeiten in der Relationsverschiebung dieser Komponenten, etwa in Abhängigkeit von Organprozessen, lassen sich nicht ohne weiteres ableiten. Das gilt im Prinzip für die Glykoproteide und Lipoproteide.

Unter den Abweichungen der Fermente sind die der LDH, aber auch die der Esterasen, insgesamt am deutlichsten, während bei den übrigen hier untersuchten Fermenten lediglich Relationsunterschiede bzw. Quantitative Differenzierungen in den einzelnen gefundenen Systemen offensichtlich wurden.

Bei der LDH kam es nicht nur zu Relationsunterschieden, sondern vor allem zu einer Verschiebung in der Zahl der Isoenzyme. Sie variierten zwischen 4 und 7, wobei die Reduzierung der Isoenzyme sowohl bei Cholangitis, bei einer Form der Stauungsleber, als auch bei Leberzell-Ca mit zusätzlicher Verschiebung des Isoenzymmusters, d.h. einmal zugunsten der LDH₁, LDH₂, das andere Mal der LDH₄ und LDH₅, erkennbar war. In anderen Fällen von Stauungslebern wurden 6 und 7 Isoenzyme mit LDH-

Aktivität dargestellt.

Unter den Esterasen fiel vor allem eine Reduzierung der Fermentaktivität bei Stauungsleber und beim Leberzell-Ca, bei Cholangitis außerdem eine deutliche Relationsverschiebung der Hauptkomponente auf.

Die Befunde über oxydaseaktive Komponenten stimmen zwar mit früheren eigenen überein (12,15), sie unterscheiden sich jedoch insofern von anderen Untersuchungsergebnissen (30,31), als dort zwar proteingebundenes Kupfer in der Leber nachgewiesen – und als Hepatocuprein bezeichnet – wurde, dieses aber im Gegensatz zum Coeruloplasmin des Serums keine Oxydaseaktivität aufweist.

Die Ergebnisse über alkalische phosphataseaktive Komponenten in den verschiedenen hier analysierten Leberhomogenaten, waren nicht so ergiebig, wie Befunde von STEPAN und Mitarbeitern (5,47). Insbesondere gelang es nicht, die verschiedenen Isoenzyme exakt zu differenzieren, wie dies von der genannten Autorengruppe beschrieben wurde. Wahrscheinlich sind die differenzierten Ergebnisse mit den unterschiedlichen Nachweismethoden zu erklären.

Die Befunde stellen insgesamt eine Ergänzung zu früheren eigenen Ergebnissen (15) sowie zu Analysen anderer Autoren dar, die unter etwa gleichen Fragestellungen gearbeitet haben (8,9,23,29a-d).

Deutlicher als die biochemischen Ergebnisse zeigen die immunologischen, daß unter pathologischen Bedingungen Leberzellproteine offenbar eine Reihe von Abweichungen in ihrer Konstellation aufweisen. Probleme der Organspezifität und der Kreuzreaktion der Proteine des menschlichen Serums sollen hier nicht berücksichtigt werden. Allein die phänotypischen Unterschiede im Präzipitationsmuster der mit einem

spezifischen Anti-Leberserum darstellbaren Organpräzipitate lassen diese Abweichungen erkennen. Die Ergebnisse sind weitgehend vergleichbar mit gleichartigen der einschlägigen Literatur(1,2,3,6,25,29,32,51). Dies gilt insbesondere für den Normalbefund und den Befund bei Zirrhosen. Ein exakter Vergleich verschiedener Angaben aus der Literatur und den hier vorliegenden Einzelbefunden ist insofern nicht möglich, als für Organextrakte bis heute keine international beschlossene Nomenklatur für die verschiedenen Proteinsysteme solcher Homogenate existiert.

Z u s a m m e n f a s s u n g :

In der vorliegenden Arbeit wurden die Extrakte von 34 histologisch unveränderten und pathologisch umgewandelten Leberorganen untersucht. Unter ihnen befanden sich 5 normale Lebern, 4 Lebern mit chronischem Parenchymschaden und 3 Lebern mit ausgeprägter Zirrhose. Die Leberhomogenate wurden vergleichsweise mit normalem Humanserum agarelektrophoretisch getrennt und färbereich, insbesondere mit Fermentnachweisen dargestellt und immunoelktrophoretisch gegen spezifische, im Tierversuch gewonnene, Anti-Leberseren und gegen ein spezifisches Anti-Humanserum differenziert.

Die agarelektrophoretischen und biochemischen Befunde wiesen tiefgreifenden Veränderungen vorwiegend im Fermentsystem auf, während die Ergebnisse der Gesamtproteinanalysen, der Glykoprotein- und Lipoprotein-Bestimmungen weniger auffällig waren. Unter den Abweichungen der Fermente waren die der LDH und der Esterasen am deutlichsten. So imponierte die LDH mit Relationsunterschieden und einer unterschiedlichen Zahl der Isoenzyme (4-7). Bei den Esterasen war eine Reduzierung der Fermentaktivität in verschiedenen pathologischen Leberhomogenaten nachweisbar. Oxydase-aktive Komponenten konnten in Analogie zum Coeruloplasmin des Serums gezeigt werden. Die Anfärbung der alkalischen Phosphatase gelang in 2 unscharf begrenzten Komponenten, die der Amylase ergab 1-2 Aufhellungszonen.

Die immunologischen Befunde zeigen deutlicher als die biochemischen, daß pathologisch veränderte Leberorgane eine Reihe von Abweichungen in der Konstellation ihrer löslichen Proteine aufweisen. Mit einem im Tierversuch gewonnenen spezifischen Anti-Le-

berserum konnten mit Normalleberhomogenaten mindestens 18 Präzipitationssysteme objektiviert werden, die sich über den gesamten elektrophoretischen Trennbereich erstreckten. Das Stauungsleberhomogenat erbrachte mit dem spezifischen Anti-Leberserum mindestens 12 Präzipitationssysteme. Eine weitere Reduzierung auf 8 Präzipitationssysteme ließ das zirrhotische Leberhomogenat erkennen. Unter Verwendung eines Anti-Humanserums ergab sich der auffällige Befund, daß hiermit die kathodisch gewanderten Proteinsysteme praktisch nicht darstellbar waren.

Im allgemeinen wichen die Ergebnisse bei der Leberzirrhose am deutlichsten von den Befunden der Normalleber ab, während verschiedene Formen von Stauungslebern mit mehr oder weniger ausgeprägtem Parenchymschaden nur geringfügige, in Einzelfällen praktisch keine Unterschiede gegenüber dem unveränderten Parenchym erkennen ließen.

L i t e r a t u r v e r z e i c h n i s

1. ABELEV, G.J.:

Antigenic structure of chemically induced
hepatomas.

Immunopathology (IVth International Symposium
Monte Carlo 1965)

Schwabe und Co, Basel 1966

2. ABELEV, G.J., N.J. KHRAMKOVA and Z.A. POSTNIKOVA:

The antigenic structure of mouse hepatomas.

I. The organo-specific antigens of the liver
and immunoelectrophoretic study of their occurrence
in hepatomas.

Neoplasma 9, 125-130 (1962)

3. BELOSHAPKINA, T.D and G.J. ABELEV:

Immunohistochemical study of insoluble antigens
of mouse liver cells.

Folia biol. (Praha) 1965 (in press)

4. BERG, G., E. ROLLER und H. LEISSLE:

Experimentelle und klinische Untersuchungen
zur Frage der Dysproteinämie-Entstehung bei
Lebererkrankungen.

Gastroenterologie 95, 88-99 (1961)

5. BÖRNING, H., J. STEPAN, A. HORN, R. GIERTLER,

G. THIELE und BRETISLAV VECEREC:

Intrazelluläre Verteilung der Isoenzyme der
alkalischen Phosphatase der Rattenleber und
ihr Verhalten nach Unterbindung des Ductus
choledochus.

Hoppe-Seyler's Z.Physiol.Chem. 348, 1311-1318
(1967)

6. CURTIS A. WILLIAMS, R. ASOFSKY and G. THORBECKE:
Plasma protein formation in vitro by tissues
from mice infected with staphylococci.
The Rockefeller Institute 118, 315 (1963)
7. DECKERS, C. et J. MAISIN:
Étude comparative de la structure antigénique
d'un hépatome transplanté et du foie chez le
rat.
Rev. belge Path. 28, 477-483 (1961)
8. DEMLING, L.:
 - a) Elektrophoretische Aufspaltung von Organeisweiß.
Klin. Wschr. 30, 74 (1952)
 - b) Neoplasmen im Elektrophoresebild.
Ärztliche Forschung 8, I/154
9. DEMLING, L., H. KINZLMEIER und N. HENNING:
Über die quantitative Zusammensetzung der Organ=
proteine (elektrophoretische Untersuchungen).
Z. exper. Med. 122, 416 (1954)
10. DIOGUARDI, N. et G.C. SECCHI:
Ricerche elettroforetiche in gel d'agar sulle
esterasi carbosiliche del siero e di frustoli
epatobiotica in corso di epatite acuta.
Archivio Italiano delle Malattie dell'Apparato
Digerente. Vol. XXXI, Fasc. VI (1964)
11. ENGEIGARDT, N.V., N.J. KHRANKOVA and Z.A. POSTNIKOVA:
Antigenic structure of mouse hepatomas.
IV. Study of the liver organo-specific antigen
in the liver and hepatomas with fluorescent
antibodies.
Neoplasma 10, 133-142 (1963)
12. GÖTZ, H.:
 - a) Fermentnachweis in Leberhomogenaten.
Ztschr. Medizin u. Ernährung 7, 29 (1966)

b) Immunhistochemie.

Sonderdruck aus Acta histochemica Suppl. VII
VEB Gustav Fischer Verlag Jena (1967)

13. GÖTZ, H. und F. SCHEIFFARTH:

Immunoelektrophoretische Untersuchungen an
Organextrakten.
Klin. Wschr. 41, 587 (1963)

14. GÖTZ, H., G. BERG und F. SCHEIFFARTH:

Methodische Grundlagen der Immunoelektrophorese.
Z. Immun. Forsch. 114, 72 (1957)

15. GÖTZ, H, F. SCHEIFFARTH und G. GAST:

Agarelektrophoretische Studien an Leberextrakten.
Z. Gastroenterologie 2, 148 (1964)

16. GÖTZ, H., H. WÜST und F. RAIES:

Agarelektrophoretische Studien zur Frage von
Isoenzymen der Amylase.
Clin. Chim. Acta 19, 235 (1968)

17. GÖTZ, H., F. SCHEIFFARTH, W. WARNATZ und W. CHRIST-
MEIER:

Weitere tierexperimentelle Studien über die
Bildung spezifischer Antikörper gegen homo-
und autologes Lebergewebe.
1. Mitteilung: Serologische Befunde.
2. Gastroenterologie 5, 299 (1967)

18. GRABAR, P.:

a) Études sur les protéines à l'aide de méthodes
immunochimique.
Bull. Soc. Biol. 36, 65 (1954)

b) Die Anwendung immunochemischer Methoden bei der
Untersuchung der Proteine, insbesondere der
Serumproteine.
Dtsch. med. Wschr. 79, 1916 (1954)

c) Untersuchung von Serumeiweißstoffen mit Hilfe der
immunochemischen Methoden.
Zbl. Bakter. 164, 15 (1955)

19. GRABAR, P. et P. BURTIN:

a) Analyse immuno-électrophorétique.

Masson u. Cie., Paris 1960

b) Immunelektrophoretische Analyse.

Elsevier Publ. Comp. (Amsterdam-London-New York), 1964

20. GRABAR, P. et C.A. WILLIAMS:

a) Méthode immuno-électrophorétique d'analyse de mélange des substances antigéniques.

Biochem. biophys. Acta 17, 67 (1955)

b) Méthode permettant l'étude conjuguée des propriétés électrophorétiques d'un mélange des protéins; application au serum sanguin.

Biochem. biophys. Acta 10, 193 (1953)

21. HEINKEL, K., H. GÖTZ, F. SCHEIFFARTH und J. DUDEK:

Der Nachweis amylaseaktiver Komponenten in Proteingemischen mit der Stärke-Agargel-Elektrophorese.

Z. Gastroenterologie 3, 154 (1965)

22. HENNING, N.:

Klinische Laboratoriumsdiagnostik.

Verlag Urban u. Schwarzenberg, München-Berlin-Wien, 3.Aufl. 1966

23. HENNING, N., L. DEMLING und R. KINZLMEIER:

Weitere Untersuchungen über die elektrophoretische Aufspaltung von Organproteinen.

Klin. Wschr. 435 (1953)

24. HESS, B. und S.J. WALTER:

Über das Protein der Lactatdehydrogenase im menschlichen Serum und in Geweben.

Klin. Wschr. 21, 1080 (1960)

25. HOCHWALD, G., G. THORBECKE and R. ASOFSKY:
Sites of formation of immun-globulins and of
a component of C 3. A new technic for the
demonstration of the synthesis of individual
serum proteins by tissues in vitro.
J. exp. Med. 114, 459 (1961)
26. KALNINS, V. and H. STICH:
Loss of liver cell antigens in azo-dye induced
hepatomas of rats.
Nature (London) 200, 189-190 (1963)
27. KESSEL, M.:
Darstellung und Identifizierung elektrophore=
tisch trennbarer Organproteine im Agargel.
Clin. Chim. Acta Vol. 4, 142 (1959)
- 28) KÜCHMEISTER, H. und K.D. VOIGT:
Vergleichende papierelektrophoretische Gewebs=
und Serumuntersuchungen des Eiweiß- und Fett=
gehaltes bei verschiedenen Leberstörungen in
Experiment und Klinik.
Dtsch. Arch. Klin. Med. 201 (1954) I
- 29) LICHT, W.:
a) Die Eiweißzusammensetzung der gesunden und
zirrhotisch veränderten Leber. Elektrophore=
tische und immunoelktrophoretische Untersu=
chungen.
Hoppe-Seyler's Zschr. f. physiol. Chemie,
334 (1963)
- b) Proteine der gesunden menschlichen Leber.
Immunoelktrophoretische Untersuchungen.
Z. klin. Med. 158, 196 (1964)
- c) Die Proteine der zirrhotischen menschlichen
Leber. Immunoelktrophoretische Untersuchungen.
Z. klin. Med. 158, 208 (1964)

- d) Untersuchungen über die Organproteine der menschlichen Leber und ihr Verhalten bei Lebererkrankungen
30. MOHAMED, M.S. and D.M. GREENBERG:
Isolation of purified copper protein from horse liver.
J. Gen. Physiol. 37, 433 (1954)
31. MORELL, A.G., J.R. SHAPIRO and J.H. STEINBERG:
Copper binding protein from human liver in Wilson's disease: "Some current concepts", edited by J.M. Walshe and J.N. Cumings.
Blackwell, Oxford 1961
32. NACHKOV, D. et NACHKOVA:
Études immunoélectrophorétiques sur les protéines des tissus hépatiques normales et infectés par virus.
Institute d'Immunologie, Sofia (1960)
- 33) OUCHTERLONY, Ö.:
Diffusion-in-gel methods for immunological analyses.
Progr. Allergy, Vol. 5, 1-78, Karger-Verlag Basel-New York, 1958
34. SCHEIFFARTH, F., H. GÖTZ und S. EBERT:
Über esteraseaktive Fraktionen in verschiedenen menschlichen Organextrakten.
Clinica Chim. Acta 14 (1966)
- 35) SCHEIFFARTH, F., H. GÖTZ und R. FRICK:
Agarelektrophoretische Studien zum Nachweis von Isoenzymen der Lactatdehydrogenase in verschiedenen menschlichen Organextrakten.
Enzym. biol. clin. 8, 283-297 (1967)
36. SCHEIFFARTH, F., H. GÖTZ und D. HOFFMANN:
Diastasenachweis in einigen menschlichen Organextrakten mit Hilfe der Elektrophorese im

Agargel.

Z. Gastroenterologie 2, 76 (1964)

37. SCHEIFFARTH, F., H. GÖTZ und G. SCHERNTHANER:
Immunoelektrophoretische Studien zur Frage
der Identität menschlicher Organ- und Serum=
proteine.
Clin. Chim. Acta 6, 481-492 (1961)
38. SCHEIFFARTH, F., H. GÖTZ und G. THUMA:
Immunoelektrophoretische Untersuchungen zur
Frage der Identität menschlicher Organ- und
Serumproteine.
Clin. Chim. Acta 7, 355-365 (1962)
39. SCHEIFFARTH, F., H. WARNATZ und H. GÖTZ:
Zum qualitativen und quantitativen Nachweis
der alkalischen Phosphatase im Serum mit Hil=
fe der Agarelektrophorese.
Med. Welt, 2216-2220 (1961)
40. SCHEIFFARTH, F., H. GÖTZ, H. WARNATZ und K. KOCH:
Agarelektrophoretische Studien über das Ver=
halten der alkalischen Phosphatase bei Leber=
kranken.
Z. Gastroenterologie 6, 345 (1964)
41. SCHEIFFARTH, F., H. WARNATZ, H. GÖTZ und G. KETTNER:
Tierexperimentelle Studien über die Bildung
humoraler Organantikörper gegen homo- und
autologes Lebergewebe.
Z. Gastroenterologie 5, 279 (1964)
42. SCHWENKE, K.D.:
Vergleichende Untersuchungen löslicher Organ=
proteine aus Tumor- und Normalgewebe mit Hil=
fe der freien Elektrophorese.
Z. Krebsforschung 68, 112 (1966)

43. SCHWICK, G. und K. STÖRIKO:
Qualitative und quantitative Plasmaproteinbestimmung durch Immunopräzipitation.
Laboratoriumsblätter, Behringwerke A.G.,
Marburg/Lahn, Mai 1964
44. SECCHI, G.C. et E. CIRIA:
Caratterizzone della esterasi albuminica in un siero bisalbuminamico.
Del. Bollettino della Societa Italiana di Biologica Sperimentale, Vol. XI, Fasc. 24, (1964)
45. SECCHI, G.C. and N. DIOGUARDI:
Multiple forms of serum and liver esterases in the normal state and in cirrhosis of the liver.
Encymol. biol. clin. 5, 29-36 (1965)
46. STARWEATHER, W.H. and K. SCHOCH:
Some observations on the lactatdehydrogenase of human neoplastic tissue.
Biochem. biophys. Acta 62, 440 (1962)
47. STEPAN, J., B. VECEREC und H. WAGNER:
Die Trennung der Isoenzyme der alkalischen Phosphatase aus Rattenserum (normal und nach Unterbindung des Ductus choledochus) durch Agarelektrophorese in verschiedenen Agar- und Agarosearten.
Hoppe-Seyler's Z. Physiol. Chem. 348, 1307-1310, (1967)
48. STÖRIKO, K. und G.B. FISHER:
Immunological investigations on low density lipoproteins.
Protides of the Biological Fluids 291 (1965)
49. SUNDERMANN, A. und H.J. ALTENBRUNN:
Elektrophoretische Untersuchungen von Leberzeleweiß.
Z. ges. inn. Med., II, 105 (1956)

50. TATSUO HASE and D. MAHIN:

Electrophoretic and immuno-electrophoretic
characterization of soluble cellular proteins
in rat liver cell sap.

Journal of Immunology 94, 2 (1965)

51. THORBECKE, G.J., R. ASOFSKY, G.M. HOCHWALD and
E.B. JAKOBSON:

Autoradiography of immuno-electrophoresis in the
study of ^{14}C -amino acid incorporation into serum
proteins by tissues in vitro and in vivo.

Protides of the Biological Fluids Vol. 11, 1963

52. URIEL, J.:

Les réactions de caractérisation des constituants
protéiques après électrophorèse au immuno-
électrophorèse en gélose. In:

a) Analyse immuno-électrophorétique.

Masson u. Cie., Paris 1960

b) Immuno-electrophoretische Analyse.

Elsevier Publ. Comp. (Amsterdam-London-New
York), 1964

53. URIEL, J. et P. GRABAR:

a) Emploi de colorants dans l'analyse électro-
phorétique et immuno-électrophorétique en milieu
gélifié.

Ann. Inst. Pasteur 90, 429 (1956)

b) Étude des lipoprotéides sériques par électro-
phorèse en gélose et l'analyse immuno-électro-
phorétique.

Bull. Soc. Chim. biol. 38, 1253 (1956)

54. URIEL, J. et J.J. SCHEIDEGGER:

Électrophorèse en gélose et coloration des
constituents.

Bull. Soc. Chim. Biol. 37, 165 (1955)

55. VAN DER HELM, H.J.:

A simplified method of demonstrating lactic dehydrogenase isoenzymes in serum.

Clin. Chim. Acta 7, 124 (1962)

56. WEILER, E.:

Die Änderung der serologischen Organspezifität bei Buttergelbtumor der Ratte im Vergleich zu normaler Leber.

Z. Naturforschung 76, 324-326 (1952)

57. WIEME, R.J.:

a) Studies in agar gel electrophoresis.

Arschia Uitgaven N.V. Brussel 1959

b) Applications diagnostiques de l'enzymo-électrophorèse. Protides biol. fluids.

Proc. VIth Coll. Prot. Brugge, Mai 1958,

p. 236, Elsevier Publ. Co, Amsterdam 1959

58. WILLIAMS, C.A. and P. GRABAR:

a) Immuno-electrophoretic studies on serum proteins.

I. The antigens of human serum.

J. Immunol. 74, 158 (1955)

b) Immuno-electrophoretic studies on serum proteins.

II. Immunsera: Antibody distribution.

J. Immunol. 74, 397 (1955)

L e b e n s l a u f

Am 24. März 1937 wurde ich als Sohn des Maurers Fritz Kreis und seiner Ehefrau Emilie, geb. Beier in Rösnitz, Kreis Leobschütz, geboren.

Dort begann ich meine schulische Ausbildung. Nach der Vertreibung besuchte ich die Volksschule und Oberrealschule in Fürth. Die Reifeprüfung legte ich am 12. April 1960 in Lübeck ab.

Mit dem Studium der Medizin begann ich im WS 1961/62 an der Universität Marburg/Lahn, wo ich am 7. August 1962 die naturwissenschaftliche Prüfung ablegte. Vom SS 1963 an schrieb ich mich an der Universität Erlangen-Nürnberg ein. Hier unterzog ich mich am 4. August 1965 der ärztl. Vorprüfung und bestand am 14. Februar 1968 die ärztl. Prüfung.

Seit dem 1. März 1968 bin ich als Medizinalassistent beim Staatlichen Gesundheitsamt in Erlangen tätig.

